

POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWAURZĄD
PATENTOWY
PRL

OPIS PATENTOWY

60228

Patent dodatkowy
do patentu _____

Zgłoszono: 14.VI.1967 (P 121 129)

Pierwszeństwo: _____

Opublikowano: 30.VI.1970

Kl. 30 h, 6

MKP C 12 d, 9/14

CZYTELNIA

UKŁ. Urzędu Patentowego
P. P. P. P.

Współtwórcy wynalazku: mgr Zofia Piekarska, mgr Wanda Konecka

Właściciel patentu: Instytut Antybiotyków, Warszawa (Polska)

Sposób izolowania erytromycyny z brzeczek pofermentacyjnej

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób izolowania erytromycyny z brzeczek pofermentacyjnej.

Znane dotychczas sposoby izolowania erytromycyny polegają na ekstrakcji antybiotyku, w środowisku alkalicznym, do rozpuszczalników organicznych, nie mieszających się z wodą, reekstrakcji do wody w środowisku lekko kwaśnym, wydzielaniu antybiotyku w postaci zasady i ewentualnej rekrystalizacji.

Inne sposoby izolowania polegają na otrzymaniu w pierwszym etapie soli erytromycyny takiej jak na przykład rodanku lub mleczanu erytromycyny i rozłożeniu jej do wolnej zasady w układzie: rozpuszczalnik organiczny — woda, w środowisku alkalicznym.

Zastosowanie kwasu mlekowego do otrzymywania mleczanu erytromycyny stwarza dodatkowe trudności. Jak wiadomo handlowy kwas mlekowy obejmuje mieszaninę składników takich jak bezwodnik kwasu mlekowego, laktyd kwasu mlekowego i kwasy polilaktylomlekowe o różnym stopniu reaktywności. Utrudnia to uzyskanie jednorodnej soli (mleczanu) erytromycyny. Użycie innych hydroksykwasów pozwala na ominięcie tej trudności i uzyskanie jednorodnych soli erytromycyny, o nieobniżonej aktywności biologicznej, a ponadto umożliwia lepszą kontrolę procesu.

Oprócz tego powyższe sposoby mają następujące wady: przy metodach nie stosujących przejścia przez sole — niska wydajność otrzymanego produ-

2

ktu; przy metodach poprzez produkty pośrednie, konieczność zagęszczania na wyparkach pod zmniejszonym ciśnieniem roztworu soli erytromycyny, w wysokowrzących rozpuszczalnikach organicznych oraz stosowania łatwopalnych rozpuszczalników przy rozkładzie soli erytromycyny do erytromycyny (zasady).

Sposobem według wynalazku unika się powyższych wad i dzięki temu otrzymuje znacznie wyższą wydajność.

W sposobie według wynalazku nie stosuje się rozpuszczalnika organicznego, a tylko wodę, jako środowiska reakcji w trakcie rozkładu pochodnej erytromycyny do erytromycyny zasady.

Sposób izolowania erytromycyny z brzeczek pofermentacyjnych polega na tym, że na wyekstrahowaną z brzeczek do rozpuszczalników organicznych erytromycynę działa się hydrokwasem jedno- lub wielokarboksylowym i jedno- lub wielohydroksylowym o ogólnym wzorze $R-(OH)_x-(COOH)_{x_1}$, w którym R oznacza rodnik alifatyczny lub aromatyczny, x i x_1 oznaczają liczby 1, 2 lub 3 takie same lub różne, przy czym gdy R oznacza rodnik alifatyczny, to x oznacza liczby 1 lub 2, a x_1 oznacza liczby 2 lub 3, a gdy R oznacza rodnik aromatyczny, to x i x_1 oznaczają liczbę 1, po czym wytrąconą pochodną erytromycyny wyosabia się z roztworu, a następnie rozkłada w temperaturze pokojowej do erytromycyny w postaci wolnej zasady przez zawieszenie w wodzie destylowanej i dodanie

wodnego roztworu K_2CO_3 w takiej ilości, aby końcowa zawartość K_2CO_3 stanowiła 34—50% wagowych ilości rozkładanej pochodnej erytromycyny. W ten sposób otrzymuje się biologicznie czynną erytromycynę (zasadę) z dobrą wydajnością. Podane w przykładach procenty oznaczają procenty wagowe.

Przykład I. Z 20 l przesączu brzezki o aktywności 3000 ng w 1 ml ekstrahowano antybiotyk do octanu amylu przy wartości pH około 10, następnie reekstrahowano go do wody przy wartości pH około 5 i ponownie przeprowadzono do octanu amylu w środowisku alkalicznym. Otrzymano 420 ml ekstraktu octanowego zawierającego 122000 ng erytromycyny w 1 ml. Z roztworu tego wytrącono pochodną erytromycyny przez dodanie 100 ml 20% roztworu kwasu salicylowego w rozpuszczalniku organicznym. Próbę mieszano najpierw w temperaturze pokojowej w ciągu 1 godziny, a następnie wstawiono do chłodni na okres 20 godzin. Po tym czasie osad odsączono i przemyto octanem amylu o temperaturze około 4°C. Otrzymano 63 g pochodnej erytromycyny o mocy około 750 ng/mg.

Rozkład pochodnej erytromycyny do erytromycyny (zasady).

Otrzymane 63 g pochodnej erytromycyny zawieszono w 315 ml wody destylowanej, po czym dodano 90 ml 25% wodnego roztworu K_2CO_3 i mieszano w ciągu kilku minut. Następnie dodano podwójną ilość wody destylowanej, próbę mieszano jeszcze w ciągu 6 godzin i pozostawiono bez mieszania na około 15 godzin. Osad odsączono, przemyto wodą o temperaturze około 65°C i suszono do stałej wagi, pod zmniejszonym ciśnieniem w temperaturze około 57°C. Otrzymano 40 g erytromycyny (zasady) z wydajnością 66,5% licząc na przesączoną brzezke, o podanej wyżej aktywności.

Przykład II. Z 10 l przesączu brzezki o aktywności 3000 ng w 1 ml ekstrahowano i reekstrahowano antybiotyk jak w przykładzie I. Otrzymano 220 ml ekstraktu octanowego zawierającego 116000 ng w 1 ml. Z roztworu tego wytrącono pochodną erytromycyny przez dodanie 60 ml 12% roztworu kwasu jabłkowego w rozpuszczalniku orga-

nicznym. Próbę mieszano w ciągu godziny w temperaturze pokojowej, po czym wstawiano na 20 godzin do chłodni. Po tym czasie pochodną erytromycyny odsączono i przemyto octanem amylu o temperaturze 4°C. Otrzymano 36,5 g pochodnej erytromycyny o mocy 650 ng/mg.

Rozkład pochodnej erytromycyny do erytromycyny (zasady).

Otrzymane 36,5 g pochodnej erytromycyny zawieszono w 183 ml wody destylowanej, po czym dodano 50 ml 25% wodnego roztworu K_2CO_3 i mieszano w ciągu kilku minut. Następnie dodano podwójną ilość wody destylowanej. Próbę mieszano jeszcze w ciągu 6 godzin i pozostawiono bez mieszania na około 15 godzin. Osad odsączono i przemyto wodą o temperaturze około 65°C, następnie suszono do stałej wagi, pod zmniejszonym ciśnieniem w temperaturze około 57°C. Otrzymano 22 g erytromycyny (zasady) z wydajnością 73% licząc na przesączoną brzezke o podanej wyżej aktywności.

Zastrzeżenie patentowe

Sposób izolowania erytromycyny z brzezki pofermentacyjnej **znamienny tym**, że na wyekstrahowaną z brzezki do rozpuszczalników organicznych erytromycynę działa się hydroksykwasem jedno- lub wielokarboksylowym i jedno- lub wielohydroksylowym o wzorze ogólnym $R-(OH)_x-(COOH)_{x_1}$, w którym R oznacza rodnik alifatyczny lub aromatyczny, x i x_1 oznaczają liczby 1, 2 lub 3 takie same lub różne, przy czym, gdy R oznacza rodnik alifatyczny, to x oznacza liczby 1 lub 2, a x_1 oznacza liczby 2 lub 3, a gdy R oznacza rodnik aromatyczny, to x i x_1 oznaczają liczbę 1, po czym wytrąconą pochodną erytromycyny wyosabia się z roztworu, a następnie rozkłada w temperaturze pokojowej do erytromycyny w postaci wolnej zasady przez zawieszenie w wodzie destylowanej i dodanie wodnego roztworu K_2CO_3 w takiej ilości, aby końcowa zawartość K_2CO_3 stanowiła 34—50% wagowych ilości rozkładanej pochodnej erytromycyny.